

# IKK (I $\kappa$ B Kinase) シグナルソームによるp51タンパク質分解制御

著者	名越 弘和
号	2109
発行年	2004
URL	<a href="http://hdl.handle.net/10097/22654">http://hdl.handle.net/10097/22654</a>

氏 名（本籍）	な 名	ごし 越	ひろ 弘	かず 和
学 位 の 種 類	博 士 （ 医 学 ）			
学 位 記 番 号	医 博 第 2 1 0 9 号			
学位授与年月日	平 成 16 年 3 月 25 日			
学位授与の条件	学位規則第 4 条第 1 項該当			
研 究 科 専 攻	東北大学大学院医学系研究科 （博士課程）医科学専攻			
学 位 論 文 題 目	IKK (I <sub>k</sub> B Kinase) シグナルソームによる p51タンパク質分解制御			

（主 査）

論文審査委員	教授 帯 刀 益 夫	教授 柴 原 茂 樹
	教授 田 村 眞 理	

## 論文内容要旨

*p53* 類似遺伝子 *p51* は *p53* の重要領域が構造上保存されているばかりでなく転写活性化能やアポトーシス誘導活性を有するなど機能的にも類似している。一方、相違点としては複数のアイソフォームの存在、それらの転写レベルでの調節、組織特異的な発現分布、四肢や表皮の発生・分化での重要性が挙げられる。これら *p51* の多様な機能は転写レベルで調節されたアイソフォームによって担われているが本学位論文では *p51* タンパク質安定化レベルでの制御機構に注目し解析を行った。*p51* タンパク質分解制御機構には① *p51B* に特異的な C 末端領域を介した制御と② TAp51 に特異的な N 末端領域を介した制御の 2 種類が存在し、そのいずれもが IKK シグナルソームによって制御されている事を今回新たに明らかにした。①については  $\Delta Np51B$  アイソフォームの表皮特異性、表皮角化細胞分化に伴う  $\Delta Np51B$  タンパク質の減少から  $\Delta Np51B$  タンパク質分解制御と表皮角化細胞分化の関性に注目した。また *p51* 欠損マウスと *IKK $\alpha$*  欠損マウスの表皮表現型の差異に注目し両者の関係を *in vitro* で解析したところ  $\Delta Np51B$  と *IKK $\alpha$*  の相互作用、*IKK $\alpha$*  依存的な  $\Delta Np51B$  のリン酸化を検出した。さらにアデノウイルス強発現系を用いて  $\Delta Np51B$  タンパク質が表皮角化細胞の分化を抑制すること、*IKK $\alpha$*  依存的リン酸化により  $\Delta Np51B$  タンパク質が消失することが表皮角化細胞の分化に重要であることを見出した。また②では TAp51 特異的ユビキチンリガーゼとして F-box と WD ドメインを有し SCF ユビキチンリガーゼ複合体を形成する *dactylin* (*Fbw4*) の同定を行った。*dactylin* は *in vitro* で TAp51 と相互作用し、これには TAp51 の N 末端の 1-39 アミノ酸が必須であることを示した。また、細胞内では、*dactylin* の過剰発現で、元来内在性 *dactylin* 依存性に不安定である TAp51 はよりいっそう不安定化し、この原因を担う TAp51 のユビキチン化には *dactylin* の F-box 領域が重要であることを示した。一方、*dactylin* は *p53* とは相互作用せず *p53* をユビキチン化する活性は有さなかった。以上のことから *dactylin* は *p51* 特異的ユビキチンリガーゼであると結論した。さらに抗癌剤処理によって *dactylin* 依存的 TAp51 タンパク質分解が抑制される事、この過程が *IKK $\gamma$*  依存的 *dactylin* のポリユビキチン化によって調節されている事を明らかにした。また同刺激で並行して安定化した *p53* と共役することでアポトーシスが誘導されることが判明しておりこの *dactylin* 依存的 TAp51 タンパク質分解制御機構の調節によって癌抑制活性が制御されている可能性が示唆された。

## 審査結果の要旨

癌抑制遺伝子 *p53* の類似遺伝子である *p51* は、その重要領域が構造上保存されているばかりでなく、転写活性化能やアポトーシス誘導活性を有するなど、*p53* と機能的にも類似している一方で、複数のアイソフォームの存在、転写レベルでの調節、組織特異的な発現分布、四肢や表皮の発生・分化での重要性などの相違点がある。

名越弘和は、*p51* の生理機能を知るため、そのタンパク質の安定化の制御機構に注目して解析を行い、*p51* タンパク質分解制御機構には、① *p51B* に特異的な C 末端領域を介した制御と、② TAp51 に特異的な N 末端領域を介した制御の 2 種類が存在し、そのいずれもが IKK シグナルソームによって制御されている事を明らかにした。

①については、 $\Delta$ Np51B アイソフォームの表皮特異性、表皮角化細胞分化に伴う  $\Delta$ Np51B タンパク質の減少、*p51* 欠損マウスと *IKK $\alpha$*  欠損マウスの表皮表現型の差異などから、 $\Delta$ Np51B のタンパク質分解制御と表皮角化細胞分化の関係に注目した。そして、 $\Delta$ Np51B は *IKK $\alpha$*  と結合し、*IKK $\alpha$*  によりリン酸化を受けること、さらに、アデノウイルス強発現系により  $\Delta$ Np51B タンパク質を発現すると表皮角化細胞分化が抑制されることから、*IKK $\alpha$*  依存的なリン酸化により  $\Delta$ Np51B タンパク質が消失することが、表皮角化細胞の分化に重要であることを見出した。

また、②では、TAp51 の特異的ユビキチンリガーゼとして *dactylin* (*Fbw4*) を同定した。*dactylin* は、*in vitro* で TAp51 と結合し、その結合には TAp51 の N 末端の 1-39 アミノ酸が必須であることを示した。また、細胞内では、*dactylin* の過剰発現で元来内在性 *dactylin* 依存的に不安定である TAp51 は、よりいっそう不安定化し、この原因を担う TAp51 のユビキチン化には、*dactylin* の F-box 領域が重要であることを示した。一方、*dactylin* は *p53* とは結合できず、*p53* をユビキチン化する活性は有さなかった。以上のことから、*dactylin* が *p51* 特異的ユビキチンリガーゼであると結論した。さらに、抗癌剤処理によって、*dactylin* 依存的に TAp51 タンパク質の分解が抑制され、この過程が *IKK $\gamma$*  依存的な *dactylin* のポリユビキチン化によって調節されている事を明らかにした。また、同刺激で並行して安定化した *p53* と共役することで、アポトーシスが誘導されることが判明しており、この *dactylin* 依存的な TAp51 タンパク質の分解制御機構の調節によって、癌抑制活性が制御されている可能性が示唆された。

以上の研究成果は、*p51* が、そのタンパク質の分解制御機構の調節によって、発生・分化、癌化の制御に関わっていることを示したものであり、優れた学位論文であると判断する。